

MH 75 L

Pasteur Celebration, Paris, Nov., 1946

MONSIEUR LE PRÉSIDENT, MESDAMES ET MESSIEURS:

Je suis très sensible à l'honneur que m'a fait votre comité en me demandant un exposé sur l'immunité.

Ce sujet n'existerait pas sans les découvertes révolutionnaires de Pasteur, ce grand innovateur français que nous célébrons aujourd'hui.

Étant donné l'assemblée choisie devant laquelle j'ai l'honneur de parler, il me paraît superflu de m'étendre sur les recherches de Pasteur ou, par exemple, de discuter les immenses services rendus dans le domaine de l'immunité par son successeur spirituel, Monsieur le Professeur Bordet que nous avons le grand plaisir d'avoir parmi nous aujourd'hui.

Je voudrais simplement commenter quelques-uns des récents progrès réalisés dans un champ restreint de l'immunité, j'entends les relations quantitatives entre la formation, la durée, et l'évaluation des anticorps de l'organisme humain, animal que mentionne malheureusement, la même variabilité que les animaux de laboratoire.

Les anciennes méthodes, basées sur les dilutions d'antigène ou de sérum ont rendu de grands services lors de l'étude des manifestations de l'immunité et de ses applications en clinique. Ces méthodes ne permettent cependant pas d'expliquer le mécanisme des réactions fondamentales de l'immunité, car elles ne sont pas absolues, c'est-à-dire, quantitatives dans le sens étroit entendu par la chimie analytique. On peut par exemple

comparer le taux d'anticorps de deux sérums antipneumococciques de même type en tenant compte de leurs titres respectifs, mais la valeur de ces titres ne donne aucune indication sur la quantité d'anticorps contenue dans chacun des sérums. D'autre part, il n'est pas possible de comparer les titres d'antisérums contre deux types de pneumocoques différents, car la combinaison entre l'anticorps et les deux polysaccharides capsulaires peut s'effectuer en proportions différentes. En outre, si l'on essaye de comparer les titres d'agglutination de deux sérums totalement différents tels qu'un sérum antipneumococcique ayant un titre de un pour mille et un sérum antityphique ayant un titre d'un pour cent mille, on aurait tort de conclure que le sérum antityphique est le plus fort. En ce cas la suspension typhique est agglutinée par un centième ou un millième de la quantité d'anticorps requise par une suspension de pneumocoques de la même densité.

*Car que le bacille d'Erberth est un meilleur antigène que le pneumocoque.*

Pour éviter de telles erreurs, on emploiera les méthodes analytiques qui indiquent la teneur réelle des anticorps en milligrammes par centimètres cubes de sérum. Ces méthodes, mises au point dans notre laboratoire à Columbia University il y a déjà plusieurs années ont fourni les bases chimiques et les chiffres exacts pour une meilleure compréhension du mécanisme des réactions d'immunité telles que la précipitation et l'agglutination. Ces méthodes ont permis l'isolement d'anticorps analytiquement purs et ont servi à démontrer que ces anticorps sont vraiment des globulines modifiées.

Pour ces analyses micro-analytiques on précipite l'anticorps par un léger excès d'antigène et on lave le précipité spécifique avec une solution physiologique froide de chlorure de sodium. Ces analyses requièrent environ un ou deux dixièmes de milligramme d'azote d'anticorps et elles ne sont pas assez délicates pour la mesure des quantités beaucoup plus petites qu'on trouve généralement dans les sérums humains. À vrai dire on ne rencontre pas souvent un sujet humain dont le sérum contient des quantités d'anticorps aussi élevées que celles que l'on trouve, par exemple, dans le sérum d'un lapin hyperimmunisé, mais, comme nous le verrons plus tard, un tel sujet humain se trouve quelquefois.

Avant l'entrée en guerre des États-Unis, les services armés me demandèrent si la formation d'anticorps après injection des polysaccharides spécifiques des

minimales de cui <sup>un</sup> pouvait deceler meme un microgramme d'azote d'anticorps par la couleur bleue de sa tyrosine; (deux) quand il s'agit de quantites d'anticorps de cet ordre, il faut <sup>attendre</sup> ~~donner beaucoup~~ <sup>long</sup> plus de temps apres l'addition de polysaccharide que l'on ne le fait d'habitude dans les reactions de precipitation ordinaires. Ce la ne doit pas etonner parceque, dans une solution quelconque, sursaturee et en meme temps visueuse comme le serum, meme le sulfate de barium ne <sup>s</sup> precipiterait pas aussi rapidement que dans une solution physiologique de chlorure de sodium. Par exemple, quand nous ajoutons dix ou vingt microgrammes d'azote d'anticorps a quatre ou cinq centimetres cubes de serum normal, nous ne retrouvons cette quantite que huit ou dix jours apres l'addition de la quantite optimale de polysaccharide. Bien entendu, quand l'analyse dure aussi longtemps, il faut s'assurer de la sterilite des serums et reactifs. Enfin, pour les serums de taux faibles, on a besoin de quatre ou cinq centimetres cubes de serum pour les tubes <sup>et</sup> <sup>c</sup> temoins <sup>et</sup> <sup>c</sup> chacun des analyses.

Souvent, dans les traites d'immunologie, on <sup>lit,</sup> ~~trouve la declaration~~ que la reaction de precipitation n'a pas le meme ordre de sensibilite que l'agglutination ou la fixation de l'alexine. Quand on fait la precipitation comme je l'ai indique, il n'y a aucune difference de sensibilite, et la precipitation pourrait meme devenir la plus sensible des reactions d'immunité in vitro.

Pendant les deux années de la durée de ces observations, nous avons trouvé que les sujets humains normaux ont dans leur sérum des anticorps contre la substance "C", le polysaccharide somatique de tous les types de pneumocoque.

D'autre

6-a

Cet anticorps, résulte probablement de la présence continuelle de pneumocoques non spécifiques sur les muqueuses de la bouche et de la gorge.

part, les polysaccharides isolés de chaque type spécifique de pneumocoque contiennent comme impureté, une quantité variable de cette même substance "C".

Par conséquent, pour arriver à la teneur vraie d'anticorps contre le type un ou le type deux, par exemple, il faut faire une absorption préalable avec la substance "C" pour débarrasser le sérum de son taux, souvent assez élevé de cet anticorps.

(Additionner 6 a)

Après des essais préliminaires, nous avons administré six centièmes de milligramme de polysaccharides des types de pneumocoque un, deux, et cinq par injection sous-cutanée à des étudiants en médecine. Des résultats typiques sont présentés sur le premier tableau. Les valeurs d'anticorps formés sont exprimées en microgrammes d'azote d'anticorps pour quatre centimètres cubes de sérum parce que cette quantité était utilisée le plus fréquemment.

On voit que le nombre de microgrammes d'azote d'anticorps trouvé est presque maximal après deux semaines et qu'il ne diminue qu'après six mois. À ce moment nous avons réinoculé aux mêmes sujets cinq centièmes de milligramme des polysaccharides des types un et deux. Singulièrement une augmentation secondaire d'anticorps n'a pas résulté comme on aurait droit d'attendre après une seconde inoculation d'une anatoxine, par exemple.

Même après plus d'une année, quand le nombre de microgrammes d'anticorps est tombé de moitié ou plus, il n'est pas possible de produire cette augmentation secondaire. Il faut donc

conclure qu'il y a quelque chose de spécial dans les propriétés antigéniques des polysaccharides spécifiques. Pour comparaison je veux montrer, sur la prochaine plaque, des valeurs d'antitoxine obtenues chez l'homme, calculées en microgrammes d'azote d'anticorps de la façon suivante. Pappenheimer et Robinson ont donné les valeurs en azote de l'unité de flocculation de Ramon pour l'anatoxine diphtérique ainsi que pour l'antitoxine du cheval. Avec ces valeurs j'ai calculé, en microgrammes d'azote d'antitoxine contenus dans quatre centimètres cubes de serum humain, les taux rapportés par Claus Jensen en termes d'unités neutralisantes dans la peau de lapin. Cette approximation doit être assez près de la réalité. On voit que les chiffres d'azote d'antitoxine formés sont presque du même ordre de grandeur que ceux que l'on obtient dans le cas de l'anticorps contre les pneumocoques, mais la durée de la <sup>durée de la</sup> ~~temps requis pour arriver à une~~ concentration maximale est beaucoup plus courte. Il est clair aussi que la quantité d'antitoxine généralement acceptée comme étant protectrice, c'est-à-dire un vingtième d'une unité flocculante par centimètre cube de serum, est une quantité trop faible pour être mesurée même par la méthode colorimétrique si délicate que j'ai décrite. Enfin, on peut noter une augmentation énorme de la concentration d'antitoxine après l'inoculation secondaire d'une petite quantité d'antigène, ce qui ne se produit pas avec les polysaccharides de pneumocoque.

~~3~~

Si, maintenant, nous revenons a la plaque precedente, nous trouvons que les valeurs d'anticorps dans les serums des differents sujets montrent une grande variabilite de la reponse immunitaire humaine. Ils montrent aussi que le pouvoir de former de grandes quantites d'anticorps en reponse a un antigene particulier ne s'applique pas necessairement a d'autres antigenes injectes en meme temps. Il semble aussi que les valeurs d'anticorps contre cet antigene "C" restent constantes pendant deux ans ou plus. On peut meme identifier certains sujets par la concentration, exceptionnellement haute ou faible, de leur serums en cet anticorps.

Les valeurs d'anticorps démontrent aussi que les polysaccharides type-  
spécifiques du pneumocoque se trouvent parmi les plus efficaces antigènes connus.  
Deux ou trois de nos sujets ont produit des quantités d'anticorps énormes  
relativement à la quantité minimale d'antigène injectée. Ces quantités sont en  
réalité du même ordre de grandeur relatif que les meilleurs titres d'antitoxine  
diphthérique du cheval rapportés dans l'histoire de la médecine. Après les travaux  
de Schoenheimer et les nôtres on sait que les anticorps participent du métabolisme  
actif de toutes les protéines sériques c'est à dire que leur production et  
destruction prennent place simultanément. On doit donc conclure que la synthèse  
de ces globulines modifiées doit être de valeur presque astronomique pour  
maintenir un taux élevé pendant six ou huit mois, comme nous l'avons vu.

Mais du point de vue santé publique l'exactitude et la sensibilité  
des méthodes analytiques sont de peu d'importance si l'on ne peut pas  
convertir les résultats obtenus en des mesures d'utilité pratique.  
Le taux moyen d'anticorps

que nous avons trouvé est <sup>il</sup> assez élevé pour protéger les sujets contre la pneumonie pneumococcique? On peut résoudre ce problème partiellement en se référant aux expériences de Wood qui a guéri la pneumonie, type un, <sup>chez</sup> dans le rat avec un anti-sérum spécifique. Il a trouvé que deux centièmes de centimètre cube de sérum <sup>pourrait</sup> guérir les rats mais que deux millièmes de centimètre cube était insuffisant. Nous avons analysé l'antisérum employé par Wood. Tenant compte d'une part du nombre de milligrammes d'anticorps contenu dans la dose curative de deux centièmes d'autre part de centimètre cube, et du volume approximatif du sérum du rat, nous avons trouvé que Wood a guéri ses rats avec environ deux fois la concentration moyenne d'anticorps du sérum des sujets humains immunisés. Il semble donc que cette dernière concentration doive être suffisante pour protéger l'homme contre les infections ordinaires et nous avons recommandé à l'armée l'inoculation des polysaccharides lors d'une épidémie de pneumonie due aux types identifiés de pneumocoques.

En conséquence, une maison de produits pharmaceutiques a préparé cent grammes de polysaccharide de chacun des types de pneumocoque un, deux, et cinq, les trois types dominants aux Etats Unis. Ces cent grammes devraient suffire à immuniser deux milliards d'hommes.

Dans une école militaire pour aviateurs de l'Ouest, la pneumonie pneumococcique était endémique pendant les années dix-neuf cent quarante trois et dix-neuf cen-

quarante quatre. Les types de pneumocoques en cause étaient connus et toutes les circonstances épidémiologiques avaient été soigneusement étudiées par les Docteurs MacLeod, Hodges et Bernhardt. Les types de pneumocoques un, deux, cinq, et sept étaient responsables dans soixante pour cent des cas de pneumonie dans l'école.

En conséquence, nous avons inoculé neuf mille élèves, récemment arrivés, avec trois à six centièmes de milligramme des polysaccharides de chacun des quatre types, un, deux, cinq, et sept. Un autre groupe de neuf mille élèves servant comme groupe témoin, ont été injectés en même temps avec une solution physiologique de chlorure sodique. On peut juger les résultats par la plaque suivante. On voit que, dans la série immunisée, il y eut quatre cas de pneumonie de ces types pendant les deux premières semaines, période probablement requise pour le développement d'anticorps en quantité suffisante. Après ces deux semaines, il n'y eut aucun cas de pneumonie dû aux types de pneumocoque dont les polysaccharides avaient été injectés. Dans la série témoin il y eut trois cas de ces types dans les deux premières semaines et vingt-trois dans les semaines suivantes, une différence frappante, mais pas aussi grande qu'on pourrait l'attendre. Il semble que la protection de la moitié des étudiants a réduit de beaucoup les chances de contacts infectieux aux quels étaient exposés les sujets non-immunisés.

Une autre observation faite au cours de cette étude confirme la conclusion que les polysaccharides injectés avaient réellement protégé les élèves de façon spécifique contre les pneumocoques de types un, deux, cinq et sept. Quand nous avons compté les cas de pneumonie dus à des types contre lesquels nous n'avions pas immunisé les élèves, nous avons trouvé une incidence égale dans les deux séries, ce qui démontre la spécificité du procédé d'immunisation et prouve que les circonstances d'infection étaient semblables dans les deux séries.

Ceci, Mesdames et Messieurs, est une application récente des principes fondamentaux de la science de l'immunité <sup>Pasteur</sup> Pasteur, dont <sup>A</sup> a été l'un des fondateurs, une application qu'on ne pourrait pas prévoir sans les microméthodes analytiques de grande exactitude, dont j'ai eu l'honneur de vous parler.